

*Resúmenes de la XXIII Reunión Bienal de la
Sociedad de Microscopía de España
3 al 6 de Julio de 2007
Bilbao*



INMUNOLOCALIZACIÓN DE PROTEOGLUCANOS (AGPS) Y DE PECTINAS, DURANTE LA GERMINACIÓN DEL GRANO DE POLEN DE OLIVO (*OLEA EUROPAEA* L.) MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL

C. Suárez¹, A. Majewska-Sawka², J.D. Alché¹, M.I. Rodríguez-García¹

¹ Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín. CSIC. Profesor Albareda, 1, E-18008, Granada, España

² Plant Breeding and Acclimatization Institute, Bydgoszcz, Polonia

e-mail: cynthia.suarez@eez.csic.es

La estructura de la pared celular del tubo polínico en el olivo ha sido previamente estudiada en nuestro grupo [1, 2]. Al igual que en otras especies, la pared está constituida en la región del ápice o zona de crecimiento por una sola capa de pectinas, mayoritariamente esterificadas. En la región próxima al grano de polen, la pared del tubo ya se ha completado, distinguiéndose una capa externa de pectinas mayoritariamente desesterificadas, una capa celulósica media, y una capa interna de calosa [3, 4, 5].

Con objeto de completar la información que se tiene acerca de los componentes de esta pared y su localización diferencial se realizaron inmunolocalizaciones sobre granos de polen de olivo germinando *in vitro*. Se utilizaron los anticuerpos LM5 y LM6 (PlantProbes, UK) que reconocen epítomos específicos de pectinas neutras, y JIM13 y JIM14 (PlantProbes, UK) que se unen a epítomos de carbohidratos presentes en las AGPs. Como anticuerpo secundario se utilizó un anti-IgG de rata conjugado con FITC. Las observaciones fueron realizadas en un microscopio confocal Nikon C1 tras excitar con un láser Ar-488.

La inmunolocalización de las AGPs revela que están distribuidas a nivel de la pared celular del tubo polínico, en el citoplasma y en la cubierta del grano de polen (**Fig. 1a, b**). Mediante los anticuerpos JIM13 y JIM14, encontramos una localización diferencial de las AGPs según sean los epítomos que reconocen los anticuerpos. Con el JIM 13 que se une a los residuos β -D-GlcpA-(1→3)- α -D-GalpA-(1→2)-L-Rha, se observa fluorescencia verde a lo largo del tubo polínico (**Fig. 1a**), apreciándose una intensa fluorescencia en la capa externa de la pared y en el plasmalema del tubo (**Fig. 1b**). Por el contrario los residuos de L-Ara reconocidos por el anticuerpo JIM 14, se localizaron solamente en el ápice del tubo (**Fig. 1c**).

En el caso de las pectinas neutras, reconocidas mediante los anticuerpos LM6 y LM5 (**Fig. 1d, e**) se encontraron tanto a lo largo de todo el tubo polínico como en las aperturas del grano de polen, pero mostrando una localización diferente. Con el anticuerpo LM5, específico para marcar cuatro residuos de (1→4)- β -D-galactosa, se observó una localización preferencial en la parte externa de las regiones aperturales del grano de polen y no en la pared celular del tubo polínico (**Fig. 1d**), mientras que con el anticuerpo LM6, específico para marcar cinco residuos de (1→5)- α -L-arabinosa, el marcado se observa a lo largo de la pared celular del tubo polínico, y también en las regiones aperturales del grano de polen (**Fig. 1e**).

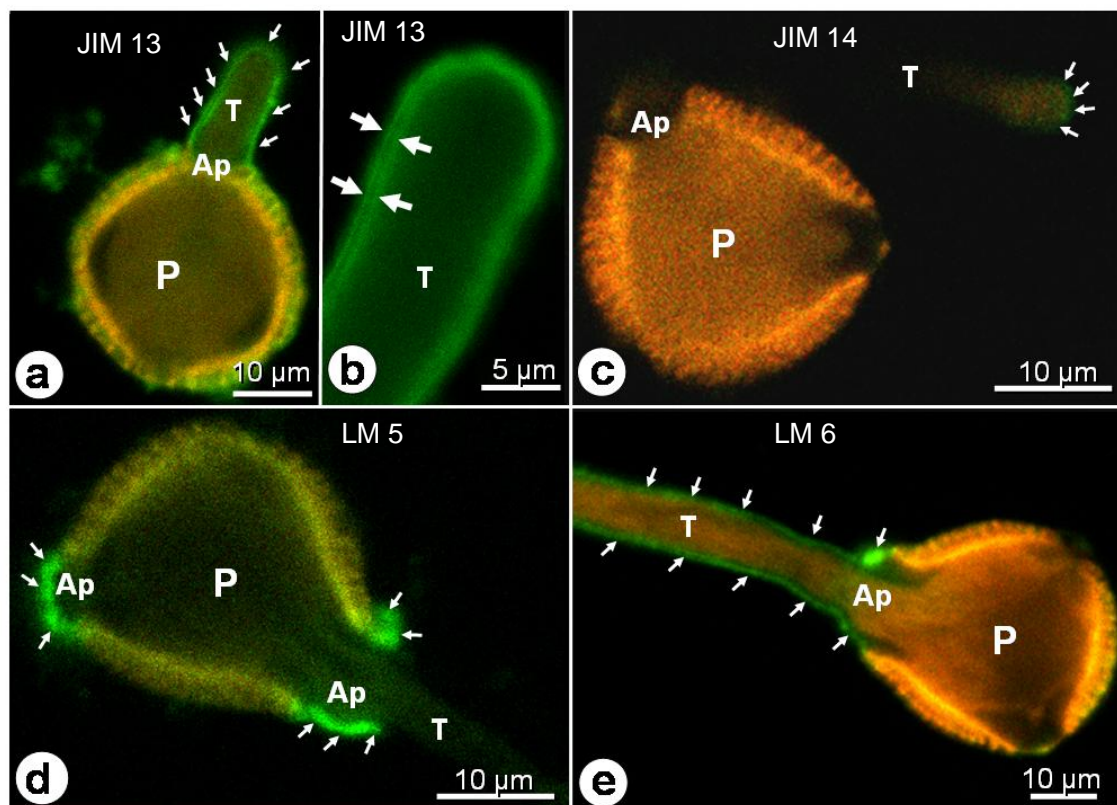


Figura 1: Localización de AGPs y pectinas en granos de polen de olivo (*Olea europaea* L.) mediante microscopía confocal. **a, b:** localización de AGPs mediante el anticuerpo JIM13 que reconoce los epítomos β -D-GlcpA-(1 \rightarrow 3)- α -D-GalpA-(1 \rightarrow 2)-L-Rha a lo largo de toda la pared del tubo polínico, donde se pueden observar dos capas diferenciales (flechas). **c:** secciones ópticas mostrando la localización de AGPs ricas en L-Ara, tras utilizar el anticuerpo monoclonal JIM14. La señal (flechas) aparece débilmente localizada en el ápice del tubo polínico. **d:** localización de pectinas neutras tras utilizar el anticuerpo LM5, específico para marcar residuos [(1 \rightarrow 4)- β -D-galactosa]₄. El marcado (flechas) se localiza preferencialmente en las regiones aperturales del grano de polen, y no en la pared celular del tubo polínico. **e:** localización de pectinas neutras tras utilizar el anticuerpo LM6, específico para marcar residuos [(1 \rightarrow 5)- α -L-Ara]₅. El marcado (flechas) se localiza en la pared celular del tubo polínico, y también en las regiones aperturales del grano de polen. Ap: apertura. P: grano de polen. T: tubo polínico.

Referencias

- [1] M. M'raniAlaoui. *Tesis doctoral*, Universidad de Granada (2000).
- [2] A. Majewska-Sawka, M.C. Fernández, M. M'Rani-Alaoui, A. Münster, M.I. Rodríguez-García. *Sex. Plant Reprod.* 15, 21-29 (2002).
- [3] J. Heslop-Harrison. *Int.Rev. Cytol.* 107: 1-78 (1987).
- [4] Y. Q. Li, F. Chen, H.F. Linskens, M. Cresti. *Sex. Plant Reprod.* 7: 145-152 (1993).
- [5] A. Geitmann, J. Hudák, F. Vennigerholz, B. Walles *J. Plant Physiol.* 147: 225-235(1995)
- [6] El presente trabajo ha sido financiado por los Proyectos MEC AGL2003-00719 y BFU2004-00601/BFI. C. Suárez agradece la concesión de una beca FPI para la realización del presente trabajo.